



# JURNAL LABORATORIUM KHATULISTIWA

e - ISSN : 2597-9531

p - ISSN : 2597-9523



## Kualitas Hasil Uji Limbah Pool-Plasma Komponen Packed Red-Blood Cell (PRC) Sebagai Antisera Golongan Darah ABO

✉ Wahdaniah<sup>1</sup>, Fitria Margini<sup>2</sup>, Asep Sabolakna<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Pontianak

<sup>2</sup>RSUD Ade Moh Djoen, Sintang

<sup>3</sup> Unit Pelatihan Kesehatan (UPELKES), Pontianak

*E-mail* : wahdasabolakna@gmail.com

Submitted : 20 April 2022; Revised : 29 April 2022; Accepted : 27 Mei 2022

Published : 31 Mei 2022

### Abstract

PRC is the most needed component for current blood transfusion. Plasma is one of the separation product of PRC from whole blood. These components are often discarded due to low plasma transfusion requirements. The residual plasma contains natural ABO agglutinins that can be utilized as polyclonal antisera in blood grouping tests. This study aims to determine the quality of pool residual plasma of PRC component as the ABO blood grouping antisera. This research uses descriptive analytic design in the form of comparative study. Samples of the test materials and the testers were obtained by purposive sampling, which consisting of each 20 units of A, B and O (positive control) plasma, and also 2 units of AB plasma (negative control) as the test materials, and each 25 of A and B fresh blood specimens as the tester materials. All of those materials should meet the inclusion and exclusion criteria of this study. According to their blood type, each of the plasma were mixed proportionally according to its weight. Then, each pool-plasma and the commercial antisera were tested together against the same fresh blood specimens by the slide method. The degree of each agglutination was observed by 2 panelists, and then analyzed statistically by Wilcoxon Signed Rank Test with error rate ( $\alpha$ ) = 5%. The degree of agglutination by using the B pool-plasma against the A fresh blood was obtained in proportions of 8.0% (2+), 38.0% (3+) and 54.0% (4+) with the difference in proportion of 34.0% (3+) higher and 42.0% (4+) lower than anti-A commercial antisera. Meanwhile, by using the A pool-plasma against the B fresh blood was obtained in proportion of 18,0% (3+) and 82,0% (4+) with difference in proportion of 18,0% (3+) higher and 18,0% (4+) lower than anti-B commercial antisera. There are significant differences between the commercial antisera and the pool residual plasma as blood grouping test materials based on observation of all panelists (p value = 0.000).

**Keywords** : PRC; Pool-Plasma; Degree of Agglutination; ABO Blood Group

PRC adalah komponen yang terbanyak dibutuhkan untuk transfusi darah saat ini. Plasma adalah salah satu produk hasil pemisahan PRC dari whole blood. Komponen ini sering dibuang akibat rendahnya kebutuhan transfusi plasma. Limbah plasma mengandung aglutinin ABO alamiah yang dapat dimanfaatkan sebagai antisera poliklonal dalam uji golongan darah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kualitas hasil uji limbah pool-plasma komponen PRC sebagai antisera golongan darah ABO. Penelitian ini menggunakan rancangan deskriptif analitik berupa comparative study. Sampel bahan uji dan penguji diperoleh melalui teknik purposive sampling, terdiri dari masing-masing 20 unit plasma A, B dan O (kontrol positif), dan juga 2 unit plasma AB (kontrol negatif) sebagai bahan uji, serta masing-masing 25 spesimen darah segar A dan B sebagai bahan penguji. Semua bahan harus memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi penelitian. Sesuai golongan darahnya, masing-masing plasma dicampur berdasarkan bobot proporsionalnya. Kemudian, setiap pool-plasma dan antisera komersial diuji bersama terhadap spesimen darah segar yang sama menggunakan metode slide. Derajat aglutinasi diamati oleh 2 orang panelis, yang kemudian dianalisis statistik menggunakan Wilcoxon Signed Rank Test dengan tingkat kesalahan ( $\alpha$ ) = 5%. Derajat aglutinasi dari penggunaan pool-plasma B terhadap darah segar A diperoleh proporsi sebesar 8,0% (2+), 38,0% (3+) dan 54,0% (4+) dengan selisih proporsi sebesar 34,0% (3+) lebih tinggi dan 42,0% (4+) lebih rendah dari antisera komersial anti-A. Sedangkan, dari penggunaan pool-plasma A terhadap darah segar B diperoleh proporsi sebesar 18,0% (3+) dan 82,0% (4+) dengan selisih proporsi sebesar 18,0% (3+) lebih tinggi dan 18,0% (4+) lebih rendah dari antisera komersial anti-B. Ada perbedaan bermakna antara antisera komersial dan limbah pool-plasma sebagai bahan uji golongan darah berdasarkan pengamatan semua panelis (nilai p = 0,000).

**Kata Kunci** : PRC; Pool-Plasma; Derajat Aglutinasi; Golongan Darah ABO

## PENDAHULUAN

Perkembangan di bidang pelayanan darah begitu luar biasa dalam 20 tahun terakhir. Teknologi terbaru dan kit uji keluaran terbaru semakin banyak. Variasi jenis tes juga semakin banyak dari waktu ke waktu, terutama jenis-jenis tes pra-transfusi menjadi sebuah keharusan. Adanya laboratorium dengan pengolahan komponen darah juga menjadi sebuah keharusan di setiap bank darah. Semua aspek tersebut menjadi pendorong bagi terpeliharanya kualitas dan terjaminnya suatu produk darah yang aman (Mehdi, 2013).

Transfusi darah adalah kegiatan memasukkan darah ke dalam tubuh melalui vena (Handayani dan Haribowo, 2008). Darah dan produk-produknya telah digunakan untuk sejumlah tujuan, antara lain untuk memperbaiki anemia, mengganti kehilangan darah, serta mengganti kandungan tertentu dari darah (Depkes & Kesos, WHO dan UNFPA, 2001). Namun, transfusi sesungguhnya merupakan tindakan berbahaya, antara lain dapat terjadi kelebihan volume, infeksi karena transfusi, reaksi leukoaglutinin, alergi, atau timbul sensitisasi terhadap eritrosit. Transfusi hanya diberikan bila benar-benar diperlukan (Waterbury, 2001).

Konsep transfusi whole blood semakin ditinggalkan. Penggunaannya semakin dikurangi karena transfusi komponen tertentu dari darah memang memiliki indikasi-indikasi tersendiri (Mehdi, 2013). Salah satu jenis komponen darah yang umum digunakan adalah konsentrat eritrosit berupa packed red-blood cell (PRC). PRC sebaiknya dibuat dari darah segar yang baru saja diambil, sehingga memungkinkan pembuatan komponen plasma dan unit trombosit. Plasma yang dipisahkan dari darah segar sebaiknya disimpan pada temperatur  $-200\text{C}$  atau di bawah itu untuk mempertahankan aktivitas faktor koagulasi V dan VIII yang labil (Waterbury, 2001). Plasma beku dapat disimpan sampai 1 tahun, tapi plasma cair hanya dapat disimpan sampai 5 hari pada suhu  $1-60\text{C}$  (Kiswari, 2014).

Suatu bank darah yang dikelola dengan baik harus seimbang antara penerimaan dan pengeluaran unit darahnya. Darah dan plasma adalah sesuatu yang berharga, sehingga penting dipantau secara rutin agar jangan sampai disimpan terlalu lama di dalam kulkas, kadaluwarsa dan kemudian akhirnya dibuang (Depkes & Kesos, WHO dan UNFPA, 2001). Faktanya, tidak semua tempat pelayanan darah memiliki fasilitas yang memadai. Komponen plasma sering terbuang percuma akibat tidak dapat diolah menjadi plasma beku, karena ketiadaan freezer dengan pengaturan suhu standar. Ketersediaan listrik yang tidak kontinyu juga turut mengurangi daya simpan plasma. Di sisi lain, nilai manfaat plasma menurun akibat

tidak semua plasma dipisahkan dari darah yang masih segar, serta sangat jarang ditemui adanya pasien yang memerlukan transfusi plasma akibat mengidap kelainan faktor pembekuan.

Beberapa kondisi di atas tentu menjadi masalah tersendiri dalam pengelolaan darah. Jika diakumulasikan, tentu volume plasma yang tidak termanfaatkan dari sisa pembuatan komponen PRC ini menjadi sangat banyak. Menurut Corwin (2009), sekitar 45% darah merupakan komponen sel darah dan 55% plasma. Sehingga, bila sebuah bank darah menggunakan jenis kantung darah berisi 49 ml antikoagulan citrate phosphate dextrose adenine (CPDA-1) dengan kapasitas tampungan 350 ml darah, kira-kira sebanyak 157,5 ml adalah fraksi sel darah yang menjadi komponen PRC dan 241,5 ml adalah plasma sitrat. Andaikan bank darah tersebut menghasilkan 100 unit PRC per bulan, maka terdapat sekitar 24,15 liter plasma sitrat yang harus terbuang percuma setiap bulannya. Banyaknya volume plasma yang tidak terpakai ini akhirnya menjadi limbah yang harus dimusnahkan.

Plasma darah memiliki fungsi yang tidak kalah penting dibandingkan sel-sel darah. Di dalam tubuh, beberapa fungsi darah terutama dilaksanakan oleh plasma dan berbagai konstituennya, terkecuali fungsi seluler spesifik seperti mengangkut oksigen dan pertahanan imunologis seluler (Murray, 2009). Tidak seperti sel-sel darah, plasma dapat dimanfaatkan lebih luas sebagai bahan dalam pengobatan. Plasma derivatives adalah sediaan-sediaan protein plasma manusia yang telah diolah berdasarkan standar pabrikan farmasi, antara lain berupa produk albumin, imunoglobulin dan faktor koagulasi VIII dan IX (WHO, 2002). Sekumpulan plasma yang dimanfaatkan untuk penggunaan in vivo seharusnya aman dari potensi menularkan penyakit. Oleh karena itu, saat ini sedang dikembangkan strategi untuk menonaktifkan kontaminasi mikroorganisme pada plasma dengan menggunakan beberapa metode, meliputi pemanasan dan penambahan larutan detergen yang sangat efektif terhadap virus, termasuk human immunodeficiency virus (HIV), hepatitis B virus (HBV) dan hepatitis C virus (HCV) (Kiswari, 2014). Meski produk-produk dari pool-plasma manusia di atas telah menjalani proses yang dirancang untuk memekatkan dan mensterilkan komponennya, namun secara teoritis masih membawa risiko menularkan penyakit yang disebabkan oleh prion (Mehta dan Hoffbrand, 2006).

Upaya yang lebih aman dan lebih mudah dipilih ialah memanfaatkan limbah pool-plasma secara in vitro. Misalnya, sebagai antisera alternatif untuk uji golongan darah ABO dengan teknik uji sederhana, karena kandungan aglutininnya serupa dengan kandungan aglutinin dalam antisera golongan darah komersial. Karena digunakan secara in vitro, risiko penular-

an penyakit menjadi lebih rendah sehingga limbah pool-plasma dapat digunakan secara langsung tanpa proses dekontaminasi tertentu terhadap mikroorganisme. Hanya saja, upaya mendapatkan anti-A dan anti-B yang murni dengan titer tinggi melalui pemekatan atau pemisahan fraksinya secara elektroforesis sangat sulit diwujudkan. Umumnya, fasilitas tersebut memang tidak ada di berbagai Unit Transfusi Darah (UTD) atau bank darah saat ini.

Sebagian besar teknik uji untuk mengetahui reaksi antigen-antibodi yang digunakan di laboratorium UTD dan bank darah adalah teknik aglutinasi. Berdasarkan prinsip itu, antibodi IgM golongan darah dapat mengaglutinasi eritrosit dalam larutan garam faal, kecuali antibodi IgG yang hanya menyelubungi atau mensensitisasinya (Depkes & Kesos, WHO dan UNFPA, 2001). Berdasarkan cara kerjanya, terdapat tiga metode penentuan golongan darah secara manual. Metode slide/tile adalah suatu teknik cepat, sehingga cocok digunakan dalam keadaan darurat (Kiswari, 2014). Meski memiliki beberapa kelemahan, metode ini paling umum digunakan di banyak tempat.

Antigen paling penting pada permukaan eritrosit adalah antigen ABO dan antigen Rhesus (Rh) yang menjadi dasar untuk menyatakan golongan darah seseorang (Corwin, 2009). Setiap individu secara alamiah menghasilkan isoantibodi spesifik terhadap jenis antigen ABO yang tidak dimilikinya (Actor, 2012). Tetapi tidak demikian dalam sistem rhesus, Anti-D tidak muncul secara alamiah pada orang Rh-D negatif, apalagi sebaliknya. Umumnya, antibodi dalam sistem ABO berupa antibodi IgM yang merupakan antibodi reaksi dingin dan mampu mengikat komplemen. Hanya saja, anti-A dan anti-B dalam darah orang golongan O seringkali berupa antibodi IgG yang bersifat sebagai hemolisin, meski memiliki titer tertinggi dibandingkan aglutinin anti-A dalam darah orang golongan B, maupun aglutinin anti-B dalam darah orang golongan A (Mehdi, 2013).

Menurut penelitian Oktari dan Silvia (2016), serum segar dari orang golongan darah A, B dan O dapat dijadikan alternatif pengganti reagen anti-A, anti-B dan anti-AB dalam menentukan golongan darah menggunakan metode slide. Namun, kualitas gumpalan yang dihasilkan tidak sama, yaitu lebih rendah dari kualitas gumpalan menggunakan reagensia golongan darah. Faktanya, limbah plasma tidak selalu berasal dari darah segar saat dipisahkan dari komponen PRC. Selain itu, plasma juga lebih encer dari serum karena mengandung cairan antikoagulan. Dalam hal ini, larutan antikoagulan yang paling umum digunakan adalah CPDA-1 (Kiswari, 2014).

Reagen uji golongan darah semula dibuat dari antibodi poliklonal yang terdapat dalam darah manusia atau beberapa jenis hewan. Sekarang, reagen

antisera ABO dibuat dari antibodi monoklonal yang disekresi dari suatu kultur sel-sel yang disebut *Hybridomas*. Beberapa reagen antisera komersial saat ini telah dimodifikasi secara kimiawi, antara lain dengan mencampur antibodi, atau membuat antibodi IgG agar bekerja seperti antibodi IgM (Depkes & Kesos, WHO dan UNFPA, 2001). Methylene blue ditambahkan pada antisera A untuk memberinya warna biru dan acriflavin pada antisera B untuk memberinya warna kuning (Mehdi, 2013). Antibodi poliklonal memiliki beberapa keterbatasan dibandingkan antibodi monoklonal, tetapi keduanya bisa digunakan dengan baik sebagai reagensia diagnostik (Actor, 2012).

Pengamatan awal dilakukan oleh peneliti dengan melakukan uji golongan darah ABO metode slide di Unit Transfusi Darah (UTD) Rumah Sakit Umum Daerah (RSUD) Ade Mohamad Djoen, Kabupaten Sintang. Peneliti menggunakan bahan aglutinogen berupa darah EDTA tunggal dari orang normal (golongan A, B, AB dan O) dan bahan aglutinin berupa limbah plasma tunggal golongan A, B, O (kontrol positif) dan AB (kontrol negatif) masing-masing dalam dua kondisi, segar (< 24 jam) dan tidak segar (24-27 hari) yang sama-sama disimpan pada suhu 1-60C. Sedangkan, reagen antisera komersial (anti-A, anti-B, anti-AB) digunakan sebagai aglutinin pembanding. Masing-masing bahan aglutinin direaksikan terhadap masing-masing bahan aglutinogen spesifiknya, kemudian diamati derajat aglutinasinya.

Hasil observasi menunjukkan bahwa secara umum reagen antisera komersial dan plasma segar menampilkan derajat aglutinasi terbaik, kemudian disusul oleh plasma tidak segar. Reagensia komersial anti-A dan anti-B sama-sama menampilkan derajat aglutinasi 4+ dalam uji ini. Jika dibandingkan dengan antisera komersial, plasma segar menghasilkan derajat aglutinasi yang setara pada uji golongan A dan B. Tetapi, plasma tidak segar menghasilkan derajat aglutinasi setingkat lebih rendah pada uji golongan A dan B.

Selama Juni – Agustus 2017, UTD RSUD Ade Mohammad Djoen setiap bulannya rata-rata menampung 60 unit (23,8%) darah A, 89 unit (35,3%) darah B, 24 unit (9,5%) darah AB dan 79 unit (31,4%) darah O, masing-masing sebanyak 350 ml darah. Setiap bulan, secara total rata-rata 183 unit PRC (72,6% dari total unit darah) diproduksi di UTD ini. Artinya, jumlah itu setara dengan membuang sekitar 44,2 liter limbah plasma per bulannya. Data tersebut menunjukkan bahwa ketersediaan limbah pool-plasma sebagai bahan antisera golongan darah ABO memang memungkinkan dari aspek kuantitas. Namun, jika diaplikasikan dalam praktik laboratorium sehari-hari belum diketahui kualitas aglutinasi yang dihasilkan pada berbagai kondisi spesimen darah yang berbeda.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini berbentuk penelitian deskriptif analitik, dengan desain penelitian comparative study. Penelitian dilaksanakan di UTD dan Laboratorium Patologi Klinik RSUD Ade Mohammad Djoen Sintang. Populasi bahan uji adalah seluruh limbah plasma sisa pembuatan komponen PRC di UTD RSUD Ade Mohammad Djoen Sintang. Populasi bahan uji pembanding yaitu seluruh reagen antisera monoklonal golongan darah dari berbagai merek dagang. Sedangkan, populasi bahan pengujian adalah seluruh darah segar dari Laboratorium Patologi Klinik RSUD Ade Mohammad Djoen Sintang.

Sampel bahan uji dalam penelitian ini adalah sejumlah limbah plasma sisa pembuatan komponen PRC, yang masing-masing terdiri dari 20 unit plasma golongan darah A, 20 unit plasma golongan darah B, 20 unit plasma golongan darah O (kontrol positif) dan 2 unit plasma golongan darah AB yang tersedia (kontrol negatif) yang disimpan di bawah 35 hari di UTD RSUD Ade Mohammad Djoen Sintang. Adapun, sampel bahan uji pembanding yaitu 1 set reagen antisera monoklonal yang terdiri dari satu kemasan anti-A 20 ml, satu kemasan anti-B 20 ml dan satu kemasan anti-AB 20 ml (kontrol positif) dari sebuah merek dagang tertentu. Sedangkan, sampel bahan pengujian meliputi sejumlah darah segar EDTA atau sitrat yang terdiri dari 25 spesimen darah golongan A dan 25 spesimen darah golongan B yang diperoleh dari Laboratorium Patologi Klinik RSUD Ade Mohammad Djoen Sintang.

Sampel unit plasma sebagai bahan uji dan sampel darah segar sebagai bahan pengujian diambil berdasarkan teknik purposive sampling. Kriteria unit plasma yang dipilih antara lain berasal dari blood bank refrigerator UTD, mengandung CPDA-1, berasal dari kantong darah bervolume tampungan 250 ml atau 350 ml (single bag, double bag atau triple bag), sisa dari pengolahan komponen PRC, darah sebelumnya tidak tampak menggumpal, tidak tampak menghitam, tidak tampak berjamur, tidak tampak hemolisis, tidak tampak ikterik, tidak tampak lipemik, hasil pemeriksaan IMLTD (Anti-HIV 1/2, Anti-HCV, HBsAg dan Syphilis) terdeteksi Non Reaktif dan dipilih dari plasma yang masa simpannya paling segar. Sedangkan, kriteria darah segar yang dipilih antara lain berupa darah utuh (whole blood), mengandung EDTA atau natrium sitrat, diperoleh  $\leq 24$  jam setelah pengambilan darah vena, tidak dibiarkan di suhu ruang  $\geq 6$  jam, tidak dapat beku, tidak tercampur dengan darah lainnya, tidak tampak hemolisis, tidak tampak ikterik, tidak tampak lipemik, bukan berasal dari penderita talasemia, anemia hemolitik, leukemia, kelainan autoimun, polisitemia, anemia berat, tidak pernah mendapatkan

transfusi darah atau transplantasi organ (berdasarkan catatan klinis pasien) dan bukan berasal dari bayi baru lahir hingga berusia 6 bulan.

Penelitian dimulai dengan mengumpulkan unit-unit plasma segar ( $\leq 24$  jam) hingga unit-unit plasma layak simpan ( $< 35$  hari), yang merupakan limbah dari pembuatan komponen PRC. Selanjutnya, 20 unit plasma golongan A digabungkan berdasarkan bobot proporsionalnya menjadi 20 ml pool-plasma A, yang kemudian disimpan ke dalam 2 botol kosong bervolume 10 ml dan diberi label dengan benar. Begitu juga seterusnya yang dilakukan terhadap 20 unit plasma golongan B, 20 unit plasma golongan O dan 2 unit plasma golongan AB. Jika sedang tidak digunakan, semua pool-plasma disimpan ke dalam lemari penyimpanan dingin pada suhu 1-60C.

Pengujian dilakukan dengan mereaksikan pool-plasma dan juga antisera komersial terhadap spesimen darah segar yang sama. Derajat aglutinasi kemudian diamati oleh para panelis. Metode pemeriksaan yang digunakan yaitu metode hemaglutinasi di atas lempeng kaca objek (slide).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Untuk menjamin kredibilitas pengamatan visual dalam menyatakan derajat aglutinasi, maka dilakukan uji validitas dan reliabilitas terhadap 5 orang calon panelis. Sebanyak 1 botol pool-plasma O, 1 spesimen darah EDTA segar golongan AB dan 1 spesimen darah EDTA segar golongan O digunakan dalam uji ini. Kedua spesimen darah EDTA segar tersebut diperoleh dari Instalasi Laboratorium Patologi Klinik RSUD Ade Mohammad Djoen, yaitu dari pasien tanpa riwayat klinis tertentu (orang normal). Spesimen darah segar EDTA golongan AB sebagiannya diencerkan menjadi beberapa tingkat pengenceran dalam tabung reaksi. Sedangkan, spesimen darah segar golongan O sama sekali tidak diencerkan. Sehingga, akhirnya diperoleh 5 spesimen dengan tingkatan yang berbeda yaitu dengan hasil negatif, 1+, 2+, 3+ dan 4+.

Setiap tabung dari 5 spesimen tadi kemudian dibagi masing-masing ke dalam 5 sample tube, sehingga diperoleh 25 buah spesimen uji, yang selanjutnya diberi label dengan kode berupa huruf A hingga Y secara acak. Seorang panelis dikatakan valid jika pada 25 kali pengamatan dengan CI 95% hasil uji statistik pearson product moment memberikan nilai  $r > 0,396$  yang ditampilkan pada kolom corrected item-total correlation dan dikatakan reliabel jika hasil uji Cronbach memberikan nilai  $\alpha > 0,60$ . Dari hasil uji validitas dan reliabilitas di atas diperoleh 2 orang panelis yang dinyatakan valid dan reliabel, yaitu panelis ke-3 dan panelis ke-5.

Selanjutnya, tahap uji kualitas dilaku-

kan dengan membagi setiap spesimen darah segar menjadi dua, pada slide pertama direaksikan dengan pool-plasma A, B, O (reagen kontrol positif) dan AB (reagen kontrol negatif), sedangkan pada slide kedua direaksikan dengan reagen anti-A, anti-B dan anti-AB (reagen kontrol positif).

Dari hasil penelitian didapatkan informasi bahwa dari 50 kali pengamatan derajat aglutinasi oleh masing-masing panelis terhadap penggunaan pool-plasma yaitu berupa derajat 2+ (panelis 3 = 6,0%, panelis 5 = 2,0%), lebih sedikit dari derajat 3+ (panelis 3 dan panelis 5 masing-masing = 28,0%) dan juga lebih sedikit dari derajat 4+ (panelis 3 = 66,0%, panelis 5 = 70,0%).

Dari 50 kali pengamatan derajat aglutinasi oleh masing-masing panelis terhadap penggunaan antisera komersial yaitu tidak terdapat derajat 2+, tetapi terdapat derajat 3+ (panelis 3 dan panelis 5 masing-masing = 2,0%) yang lebih sedikit dari derajat 4+ (panelis 3 dan panelis 5 masing-masing = 98,0%). Jika hasil pengamatan para panelis dirata-rata, maka derajat aglutinasi yang dihasilkan pada penggunaan pool-plasma antara lain derajat 2+ yaitu 4,0%, derajat 3+ yaitu 28,0% dan derajat 4+ yaitu 68,0%. Sedangkan, pada penggunaan antisera komersial antara lain derajat 3+ yaitu 2,0% dan derajat 4+ yaitu 98,0%. Artinya, terdapat selisih sebesar 26,0% lebih tinggi proporsi pool-plasma dari antisera komersial pada derajat 3+ dan selisih sebesar 30,0% lebih rendah proporsi pool-plasma dari antisera komersial pada derajat 4+.

Dari masing-masing 25 kali pengamatan derajat aglutinasi golongan A dan golongan B oleh 2 orang panelis terhadap penggunaan pool-plasma yaitu berupa derajat 2+ (golongan A = 8,0%, golongan B = 0,0%), lebih sedikit dari derajat 3+ (golongan A = 38,0%, golongan B = 18,0%) dan juga lebih sedikit dari derajat 4+ (golongan A = 54,0%, golongan B = 82,0%). Selisih proporsi dalam penggunaan pool-plasma antara lain pada derajat 2+ yaitu 8,0% lebih tinggi proporsi golongan A dari golongan B, pada derajat 3+ yaitu 20,0% lebih tinggi proporsi golongan A dari golongan B dan pada derajat 4+ yaitu 28,0% lebih rendah proporsi golongan A dari golongan B.

Dari masing-masing 25 kali pengamatan derajat aglutinasi golongan A dan golongan B oleh 2 orang panelis terhadap penggunaan antisera komersial yaitu tidak terdapat derajat 2+, tetapi terdapat derajat 3+ (golongan A = 4,0%, golongan B = 0,0%) yang lebih sedikit dari derajat 4+ (golongan A = 96,0%, golongan B = 100,0%). Selisih proporsi dalam penggunaan antisera komersial antara lain pada derajat 3+ yaitu 4,0% lebih tinggi proporsi golongan A dari golongan B dan pada derajat 4+ yaitu 4,0% lebih rendah proporsi golongan A dari golongan B. Jika dibandingkan, terdapat selisih sebesar 34,0% lebih tinggi proporsi pool-plasma dari antisera komersial pada

derajat 3+ dan selisih sebesar 42,0% lebih rendah proporsi pool-plasma dari antisera komersial pada derajat 4+ untuk golongan A, tetapi terdapat selisih sebesar 18,0% lebih tinggi proporsi pool-plasma dari antisera komersial pada derajat 3+ dan selisih sebesar 18,0% lebih rendah proporsi pool-plasma dari antisera komersial pada derajat 4+ untuk golongan B.

**Tabel 1.** Hasil Analisis Wilcoxon Signed Rank Test Terhadap Derajat Aglutinasi Golongan Darah Metode Slide antara Penggunaan Pool-Plasma dan Antisera Komersial

Rank	N	Mean Rank	Z	Asymp. Sig (2-tailed)
<b>Panelis 3</b>				
Gol. A				
Neg R	0	0,00	- 3,276	0,001
Pos R	12	6,50		
Tiles	13			
Total	25			
Gol. B				
Neg R	0	0,00	- 2,236	0,025
Pos R	5	3,00		
Tiles	20			
Total	25			
Gol. A dan B				
Neg R	0	0,00	- 3,945	0,000
Pos R	17	9,00		
Tiles	33			
Total	50			
<b>Panelis 5</b>				
Gol. A				
Neg R	0	0,00	- 3,317	0,001
Pos R	11	6,0		
Tiles	14			
Total	25			
Gol. B				
Neg R	0	0,00	- 2,000	0,046
Pos R	4	2,5		
Tiles	21			
Total	25			
Gol. A dan B				
Neg R	0	0,00	- 3,873	0,000
Pos R	15	8,00		
Tiles	35			
Total	50			
<b>Semua Panelis</b>				
Gol. A				
Neg R	0	0,00	- 4,630	0,000
Pos R	23	12,00		

Tiles	27			
Total	50			
Gol. B				
Neg R	0	0,00	- 3,000	0,003
Pos R	9	5,00		
Tiles	41			
Total	50			
Gol. A dan B				
Neg R	0	0,00	- 5,507	0,000
Pos R	32	16,50		
Tiles	68			
Total	100			

Tabel 1 menginformasikan bahwa hasil analisis statistik secara komputerisasi menggunakan Wilcoxon Signed Rank Test menghasilkan nilai  $p = 0,001$  dari golongan darah A, nilai  $p = 0,025$  dari golongan darah B dan nilai  $p = 0,000$  dari kedua jenis golongan darah tersebut berdasarkan pengamatan panelis ke-3, dan menghasilkan nilai  $p = 0,001$  dari golongan darah A, nilai  $p = 0,046$  dari golongan darah B dan nilai  $p = 0,000$  dari kedua jenis golongan darah tersebut berdasarkan pengamatan panelis ke-5, serta menghasilkan nilai  $p = 0,000$  dari golongan darah A, nilai  $p = 0,003$  dari golongan darah B dan nilai  $p = 0,000$  dari kedua jenis golongan darah tersebut berdasarkan pengamatan semua panelis. Semua nilai tersebut lebih kecil dari nilai  $\alpha = 5\%$  ( $p \text{ value} < 0,050$ ). Artinya  $H_0$  ditolak dan  $H_a$  diterima. Ini berarti bahwa ada perbedaan derajat aglutinasi yang signifikan antara penggunaan pool-plasma dan antisera komersial sebagai aglutinin golongan darah metode slide berdasarkan pengamatan semua panelis pada golongan darah A, golongan darah B maupun kedua jenis golongan darah tersebut.

Penelitian ini masih bersifat mendasar dan sederhana. Peneliti tidak melakukan eksperimen tertentu pada bahan pool-plasma, misalnya dengan memberikan pengawet, pewarna atau melakukan pemekatan terhadap plasma, karena ketiadaan bahan dan metode untuk melaksanakannya. Meski demikian, aglutinasi yang dihasilkan selama penelitian berlangsung selalu terbentuk dengan baik, tanpa ditemukan efek prozone, positif palsu atau negatif palsu, baik dari penggunaan darah segar dengan bahan pool-plasma atau dengan bahan reagen antisera komersial.

Reagen antisera golongan darah komersial yang tersedia saat ini di pasaran tentu telah melalui uji kualitas terlebih dahulu agar memenuhi standar yang telah ditetapkan sebelum dapat dipasarkan. Sedangkan, aglutinin ABO yang secara alamiah terdapat di dalam plasma tentu belum teruji, sehingga harus diuji terlebih dahulu sebelum digunakan untuk tujuan yang sama.

Hasil penelitian menunjukkan secara umum terdapat selisih sebesar 26,0% lebih tinggi proporsi

pool-plasma dari antisera komersial pada derajat 3+ dan selisih sebesar 30,0% lebih rendah proporsi pool-plasma dari antisera komersial pada derajat 4+. Untuk golongan A, terdapat selisih sebesar 34,0% lebih tinggi proporsi pool-plasma dari antisera komersial pada derajat 3+ dan selisih sebesar 42,0% lebih rendah proporsi pool-plasma dari antisera komersial pada derajat 4+. Tetapi untuk golongan B, terdapat selisih sebesar 18,0% lebih tinggi proporsi pool-plasma dari antisera komersial pada derajat 3+ dan selisih sebesar 18,0% lebih rendah proporsi pool-plasma dari antisera komersial pada derajat 4+. Kemudian, hasil analisis Wilcoxon Signed Rank Test menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna pada derajat aglutinasi yang diamati oleh semua panelis antara penggunaan limbah pool-plasma dan antisera komersial (nilai  $p = 0,000$ ).

Data di atas menunjukkan bahwa secara umum terdapat perbedaan proporsi cukup besar antara penggunaan pool-plasma dan antisera komersial. Hal ini mungkin disebabkan oleh perbedaan konsentrasi aglutinin yang terkandung di dalam masing-masing bahan. Menurut UK NIBSC dalam NIB (2012), antisera komersial monoklonal harus memiliki titer aglutinin  $\geq 1 : 256$  untuk anti-A1 dan anti-B, titer  $\geq 1 : 128$  untuk anti-A2 dan anti-A1B, serta titer  $\geq 1 : 64$  untuk anti-A2B, sehingga antisera komersial merupakan bahan yang telah terstandar konsentrasi aglutininnya. Sedangkan, plasma mengandung antikoagulan CPDA-1 yang membuat konsentrasinya lebih encer daripada sebelum plasma darah tersebut ditampung ke dalam kantung darah, yaitu dengan perbandingan pengenceran sekitar 7:1 (350 ml darah dengan 49 ml CPDA-1). Sehingga, konsentrasi aglutinin yang lebih rendah di dalam plasma ini dapat mempengaruhi penurunan derajat aglutinasinya.

Bila derajat aglutinasi diberi skor 0-4 sesuai dengan peningkatan derajat aglutinasi, antara lain derajat Negatif = skor 0, derajat 1+ = skor 1, derajat 2+ = skor 2, derajat 3+ = skor 3 dan derajat 4+ = skor 4, maka selisih perbedaan derajat aglutinasi antara penggunaan pool-plasma dan antisera komersial diperoleh rata-rata skor sebesar 0,34 atau sekitar 1/3 derajat lebih rendah pool-plasma dari antisera komersial. Sedangkan, pada uji golongan darah A selisih perbedaannya diperoleh rata-rata skor sebesar 0,50 atau 1/2 derajat lebih rendah pool-plasma B dari antisera komersial anti-A, tetapi pada uji golongan darah B perbedaannya diperoleh rata-rata skor sebesar 0,18 atau sekitar 1/5 derajat lebih rendah pool-plasma A dari antisera komersial anti-B. Jika pool-plasma ini dapat dipekatkan dengan metode tertentu atau dipisahkan melalui fraksinasi plasma, diharapkan konsentrasi aglutinin dari bahan pool-plasma dapat meningkat setara dengan konsentrasi aglutinin dari antisera komersial.

Data di atas juga menunjukkan ada perbedaan proporsi yang terlihat lebih besar terjadi pada uji golongan darah A dibandingkan pada uji golongan darah B, yaitu lebih banyak ditemukan derajat aglutinasi lebih rendah pada uji golongan darah A dibandingkan pada uji golongan darah B. Hal tersebut mungkin dipengaruhi oleh berbagai sebab, salah satunya kesegaran bahan penyusun pool-plasma yang digunakan. Meskipun terdapat penyangga pH di dalam kantung darah, glukosa dan albumin di dalam bahan plasma yang disimpan terlalu lama dapat mengalami penguaraian secara lambat oleh bakteri yang mungkin mengkontaminasi saat flebotomi dilakukan. Adanya perubahan konsentrasi ion dalam jumlah besar di dalam plasma dapat mempengaruhi perubahan pH plasma.

Jika diperhatikan, bahan pool-plasma A terbuat dari usia simpan plasma 4-25 hari dengan rata-rata 17,3 hari, sedangkan, pool-plasma B terbuat dari usia simpan plasma 0-28 hari dengan rata-rata 14,3 hari. Meski, bahan penyusun pool-plasma B memiliki usia simpan rata-rata yang lebih pendek 3 hari dari bahan penyusun pool-plasma A, namun usia simpan pool-plasma B memiliki rentang lebih lebar yaitu 28 hari, daripada rentang usia simpan pool-plasma A yaitu 21 hari. Sehingga, tingkat kesegaran bahan pool-plasma B yang digunakan dalam uji golongan darah A turut mempengaruhi turunnya derajat aglutinasi yang dihasilkan.

Sebab lainnya mungkin adalah adanya subtipe golongan darah A yang khas pada beberapa spesimen darah segar golongan A. Menurut Mehdi (2013), golongan darah A telah diklasifikasikan ke dalam golongan A1 dan A2 tergantung pada reaksinya terhadap antisera anti-A, bahkan saat ini telah ditemukan beberapa subtipe golongan darah A lainnya yang sangat jarang. Eritrosit golongan darah A1 memiliki sisi antigenik yang lebih banyak bagi antigen A dan sangat sedikit bagi substansi H. Sebaliknya, eritrosit golongan darah A2 adalah subtipe yang lemah karena memiliki sisi antigenik lebih banyak bagi substansi H pada eritrositnya. Sekitar 80% dari populasi golongan darah A adalah A1 dan selebihnya yaitu 20% adalah A2. Untuk mencegah disparitas hasil uji golongan darah A akibat adanya subtipe golongan A yang khas, maka sebaiknya pool-plasma dibuat dari sebanyak mungkin unit plasma dari individu yang berbeda.

Sifat antisera poliklonal diketahui lebih rendah spesifitasnya dibanding antisera monoklonal. Menurut Actor (2012), hal ini memungkinkan adanya reaksi silang oleh antibodi poliklonal terhadap antigen lainnya. Tetapi, dari hasil penelitian menunjukkan bahwa semua spesimen darah segar yang digunakan sebagai bahan pengujian tidak diperoleh hasil negatif palsu dan positif palsu. Kondisi ini mungkin disebabkan karena dalam penelitian ini menggu-

nakan jumlah sampel darah segar yang kecil, yaitu hanya menggunakan darah segar golongan A dan B masing-masing sebanyak 25 spesimen. Jika menggunakan jumlah sampel yang jauh lebih besar, misalnya di atas 300 spesimen seperti uji spesifitas dan sensitivitas pada umumnya, mungkin dapat ditemukan beberapa hasil negatif palsu dan positif palsu, sehingga dapat dihitung spesifitas dan sensitivitas uji golongan darah menggunakan bahan pool-plasma ini.

Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa kontrol positif yang disertakan dalam uji kualitas selalu menampilkan derajat aglutinasi 4+. Hal ini menunjukkan bahwa pool-plasma O yang digunakan sebagai bahan uji untuk kontrol positif memiliki kandungan aglutinin anti-A dan anti-B alamiah yang afinitasnya sangat baik, yaitu sebagian besar berupa imunoglobulin M (IgM). Meski menggunakan spesimen darah segar yang sama, aglutinasi yang dihasilkan oleh pool-plasma O menampilkan derajat aglutinasi yang optimal (4+), yaitu setara atau lebih tinggi dari aglutinasi yang dihasilkan pool-plasma A atau pool-plasma B. Dengan demikian, dalam uji golongan darah menggunakan bahan pool-plasma harus selalu disertakan bahan uji kontrol positif dan bahan uji kontrol negatif.

## PENUTUP

Berdasarkan hasil penelitian kualitas hasil uji limbah pool-plasma komponen Packed Red-Blood Cell (PRC) sebagai antisera golongan darah ABO, dapat ditarik beberapa simpulan bahwa dari total 50 pengamatan yang dilakukan oleh 2 orang panelis terhadap 25 spesimen darah golongan A diperoleh proporsi derajat 2+ sebanyak 8,0%, derajat 3+ sebanyak 38,0% dan derajat 4+ sebanyak 54,0%. Selisih proporsinya pada derajat 3+ sebesar 34,0% lebih tinggi dari reagen antisera (monoklonal) komersial dan pada derajat 4+ sebesar 42,0% lebih rendah dari reagen antisera (monoklonal) komersial. Sedangkan, dari total 50 pengamatan yang dilakukan oleh 2 orang panelis terhadap 25 spesimen darah golongan B diperoleh proporsi derajat 3+ sebanyak 18,0% dan derajat 4+ sebanyak 82,0%. Selisih proporsinya pada derajat 3+ sebesar 18,0% lebih tinggi dari reagen antisera (monoklonal) komersial dan pada derajat 4+ sebesar 18,0% lebih rendah dari reagen antisera (monoklonal) komersial. Sehingga, dari total 100 pengamatan yang dilakukan oleh 2 orang panelis terhadap 50 spesimen golongan darah A dan B diperoleh proporsi derajat 2+ sebanyak 4,0%, derajat 3+ sebanyak 28,0% dan derajat 4+ sebanyak 68,0%. Selisih proporsinya pada derajat 3+ sebesar 26,0% lebih tinggi dari reagen antisera (monoklonal) komersial dan pada derajat 4+ sebesar 30,0% lebih rendah dari reagen antisera (monoklonal)

komersial.

Ada perbedaan yang bermakna pada derajat aglutinasi metode slide yang dihasilkan antara antisera (monoklonal) komersial anti-A dan limbah pool-plasma komponen PRC golongan B sebagai antisera (poliklonal) pada uji golongan darah A berdasarkan pengamatan semua panelis (nilai  $p = 0,000$ ).

Ada perbedaan yang bermakna pada derajat aglutinasi metode slide yang dihasilkan antara antisera (monoklonal) komersial anti-B dan limbah pool-plasma komponen PRC golongan A sebagai antisera (poliklonal) pada uji golongan darah B berdasarkan pengamatan semua panelis (nilai  $p = 0,003$ ).

World Health Organization (WHO). 2002. Handbook : Clinical Use of Blood. Geneva : WHO.

## DAFTAR PUSTAKA

- Actor, Jeffrey K. 2012. Elsevier's Integrated Review : Immunology and Microbiology. Second Edition. Philadelphia : Elsevier Inc.
- Corwin, Elizabeth J. 2009. Buku Saku Patofisiologi. Edisi 3. Alih Bahasa oleh Nike Budhi Subekti. Jakarta : EGC.
- Departemen Kesehatan & Kesejahteraan Sosial (Depkes & Kesos) Republik Indonesia, World Health Organization (WHO) dan United Nations Fund for Population Activities (UNFPA). 2001. Buku Pedoman Pelayanan Transfusi Darah (Modul 1-4). Jakarta : Depkes & Kesos RI.
- Handayani, Wiwik., & Haribowo, Andi Sulisty. 2008. Asuhan Keperawatan pada Klien dengan Gangguan Sistem Hematologi. Jakarta : Salemba Medika.
- Kiswari, Rukman. 2014. Hematologi & Transfusi. Jakarta : Penerbit Erlangga.
- Mehdi, S.R. 2013. Essentials of Blood Banking : A Handbook for Students of Blood Banking and Clinical Residents. Second Edition. Kathmandu : Jaypee Brothers Medical Publishers (P) Ltd.
- Mehta, Atul B., & Hoffbrand, A. Victor. 2006. At a Glance : Hematologi. Alih Bahasa : dr. Huriawati Hartanto. Jakarta : Penerbit Erlangga.
- Murray, Robert K. 2009. Biokimia Harper. Alih Bahasa : dr. Brahm U. Pendit. Jakarta : EGC.
- National Institute of Biologicals (NIB). 2012. Guidance Manual "Quality Control of ABO and Rh Blood Grouping Reagents". Ministry Health & Family Welfare, Government of India.
- Oktari, Anita., & Silvia, Nida Daeninur. 2016. Pemeriksaan Golongan Darah Sistem ABO Metode Slide dengan Reagen Serum Golongan Darah A, B, O. Skripsi. Bandung : Sekolah Tinggi Analisis Bakti Asih.
- Waterbury, Larry. 2001. Buku Saku Hematologi. Edisi 3. Alih Bahasa : Sugi Suhandi. Jakarta : EGC.